

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 041032

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.31

(21) Номер заявки
202090827

(22) Дата подачи заявки
2018.09.18

(51) Int. Cl. A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01)
A61K 47/20 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(54) ПЕРОРАЛЬНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОГО РЕФЛЮКСА

(31) 102017000108526

(32) 2017.09.28

(33) IT

(43) 2020.06.24

(86) PCT/EP2018/075200

(87) WO 2019/063363 2019.04.04

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АЛЬФАСИГМА С.П.А. (IT)

(72) Изобретатель:
Маффен Паола, Масканьи Марко,
Вискоми Джузеппе Клаудио (IT)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-2013183325
US-A1-2014107064
US-A1-2006292184
US-A1-2012238630

(57) В данном изобретении описана мукоадгезивная композиция, содержащая сульфат хондроитина, ксиллоглюкан и глицерин для применения в лечении и профилактике гастроэзофагеального рефлюкса. Также описан способ получения такой композиции, дозированная форма для его введения и набор, содержащий ее.

041032

B1

041032

B1

Область техники

В изобретении описана мукоадгезивная композиция, содержащая сульфат хондроитина, ксилотрикан и глицерин для применения в лечении и профилактике гастроэзофагеального рефлюкса.

В изобретении также описан способ получения таких композиций, дозированная форма для их введения и набор, содержащий такую композицию.

Уровень техники

Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) является очень распространенным заболеванием, которое возникает со своим преобладающим симптомом, т.е. желудочной изжогой, из-за попадания содержимого желудка в пищевод, где оно раздражает слизистую оболочку, вызывая боль и дискомфорт в течение нескольких минут или часов.

Желудочная изжога может быть вызвана многими факторами, такими как пищевые привычки, различные виды пищи, беременность и побочные эффекты лекарственных средств. Кроме того, стресс усиливает чувствительность к кислоте, а накопление жира у людей с избыточным весом или ожирением увеличивает брюшное давление, способствуя прохождению содержимого желудка в пищевод.

Хотя наиболее общепризнанными симптомами ГЭРБ являются изжога и/или кислая отрыжка, загрудинная боль и кислый вкус во рту, ГЭРБ часто ассоциируется с другими клиническими проявлениями, такими как ощущение "комка в горле", не обструктивная дисфагия, боль в груди, хронический кашель, икота, диспепсия или отрыжка [Frye JW et al, Gastroenterol Clin North Am 2008; 37: 845-858].

Хотя консенсус, основанный на доказательствах, включает кашель, раздражающий кашель, хрипоту, ларингит, астму и зубную эрозию как атипичные проявления, другие атипичные симптомы также часто встречаются со значительным влиянием у пациентов с ГЭРБ [Cho YS, et al. Am J Gastroenterol 2005; 100: 747-753]. Так как большинство пациентов с ГЭРБ не показывают эрозию при эндоскопии, ГЭРБ дополнительно классифицируется на эрозивную рефлюксную болезнь (ЭРБ) и неэрозивную рефлюксную болезнь (НЭРБ) [Vakil N, et al. Am J Gastroenterol 2006; 101: 1900-1920]. Очевидно, что НЭРБ не является более мягкой формой ГЭРБ, поскольку аналогичное влияние на качество жизни было продемонстрировано независимо от наличия повреждения слизистой оболочки [Kulig M, et al. Aliment Pharmacol Ther 2003; 18: 767-776].

Сообщалось, что в Европейском комплексном исследовании атипичные симптомы у пациентов с ЭРБ несколько сильнее, чем при НЭРБ [Jaspersen D, et al. Aliment Pharmacol Ther 2003; 17: 1515-1520]. Популяционное исследование в Корее подтвердило, что типичные симптомы рефлюкса, т.е. изжога и отрыжка, загрудинная боль и кислый вкус во рту, в значительной степени связаны с атипичными симптомами. Интересно, что увеличение частоты типичных симптомов ГЭРБ было обнаружено чаще у пациентов с атипичными симптомами, чем у пациентов без каких-либо атипичных симптомов. [Chin-Hsun Yi et al. J Neurogastroenterol Motil, 2012; 18: 278-283].

Ингибиторы протонного насоса (ИПН) являются медицинским лечением первого выбора для гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, поскольку они способны обеспечить скорости заживления 80-85% при поражениях пищевода, включая язвы. Тем не менее, ИПН не позволяют устранить частоту осложнений, и пациенты часто продолжают сообщать о симптомах и проблемах, которые снижают качество их жизни.

Также пациенты с неэрозивным рефлюксом демонстрируют пониженное облегчение после лечения ИПН, и у Katz P.O. et al. in Alim Pharm Ther 2006, 23 (Suppl 2), 9-22 описано, что только у 20% таких пациентов происходит терапевтическое восстановление, но у большинства из них возникает рецидив в течение 6 месяцев. Недавние исследования показали, что у пациентов с НЭРБ не только кислая отрыжка, но и не кислая отрыжка может вызвать патогистологические изменения. Например, дилатация межклеточного пространства между клетками, прилегающими к эпителию пищевода, представляет собой признак, который стал показателем для диагностики микроскопического эзофагита.

Увеличенные межклеточные пространства вызывают увеличение проницаемости, способствующей проникновению ионов водорода и других веществ, т.е. пепсина и желчи, в подслизистую оболочку пищевода, доходя до нервных волокон. Стимуляция этих волокон вызывает характерный симптом изжоги. Некоторые исследования показывают, что кислый рефлюкс и дуоденально-желудочный рефлюкс могут оказывать синергетическое действие при образовании поражений. Кроме того, пепсин играет роль в патогенезе проявлений ГЭРБ вне пищевода.

На рынке существует несколько лекарственных средств и медицинских устройств для лечения гастроэзофагеального рефлюкса, содержащих сульфат хондроитина и альгинаты.

Сульфат хондроитина (СХ) является природным глюкозаминогликаном, присутствующим во внеклеточной матрице. Он является линейным гетерополисахаридом, состоящим из повторяющихся дисахаридных единиц глюконовой кислоты, которые обычно сульфированы на С-4 и/или С-6 глюкозамина. Природный сульфат хондроитина, экстрагированный из слизистой животных, обычно имеет молекулярную массу от 10000 до 50000 Дальтонов. СХ придает эластичность хрящам, контролирует их резистентность и защищает эпителий от кислотных атак и уротелий от калия.

При патологиях, когда концентрация сульфата хондроитина низка, таких как гастрит или интерстициальный цистит, введение продуктов на основе сульфата хондроитина помогает снижать симптомы, вызванные рефлюксом, и снижать воспаление.

Альгинат экстрагируют из клеточных стенок водорослей, он выглядит как камедь, а суспензия, образованная альгинатом натрия, при проглатывании реагирует с хлористоводородной кислотой, присутствующей в желудке, образуя защитную пленку на уровне кардии. Желатинизированная структура альгината натрия характеризуется нейтральными значениями pH, плавает над пищей в желудке, предотвращая гастроэзофагеальный рефлюкс. Альгинат входит в состав продукта Gaviscon® вместе с бикарбонатом натрия.

В EP 2296670 B1, соответствующем US 2014/0107064, описано сочетание гиалуроновой кислоты и сульфата хондроитина вместе с биоадгезивным агентом для профилактики или лечения эзофагита. Биоадгезивный агент выбирают из полоксамера, полимеров поливинилпирролидона и производных целлюлозы.

В EP 2435021 B1 описано применение композиций, содержащих гиалуроновую кислоту, сульфат хондроитина и гидроксид алюминия для лечения желудочной болезни, такой как гастрит и повреждения дуоденального эндотелия.

В US 7,504,387 описано применение раствора, содержащего гиалуроновую кислоту и сульфат хондроитина для лечения интерстициального цистита.

В EP 1173218 B1 и EP 1614431 B1 описано применение композиций, включающих альгинат и два вида камедей; где первая камедь выбрана из ксантановой камеди и каррагинановой камеди и вторая камедь выбрана из галактоманнана и глюкоманнана. Эти композиции характеризуются высокими биоадгезивными свойствами и способны прилипать к стенкам пищевода, но имеют высокие значения вязкости. Из-за их высокой вязкости композицию трудно готовить и она плохо принимается пациентами.

В EP 1898876, B1 соответствующем US 2013/0183325, описаны мукоадгезивные композиции, содержащие глицерин и ксиллоглюкан, подходящие для нанесения на слизистые мембраны человека, для применения в качестве увлажняющих и смягчающих агентов или в качестве фармацевтической системы выделения для местного и/или системного применения.

В US 2006/292184 описаны мукоадгезивные композиции для применения в лечении и профилактике гастроэзофагеального рефлюкса, содержащие глицерин.

Термин ксиллоглюкан относится к классу полисахаридов, структурно связанных с целлюлозой и тесно связанных с ней в клеточной стенке высших растений. Они также являются одним из основных компонентов, вероятно, с функцией энергетического резерва, семян таких растений, как *Tamarindus indica*, произрастающего в Индии и Юго-Восточной Азии, *Detarium senegalense* и *Azafia africana*, широко распространенных в центральной и восточной Африке, и *Hymenaea courbaril*, широко распространенного в центральной и южной Америке. Ксиллоглюканы характеризуются основной цепью (1,4)- β -D-глюкана, замещенной боковыми цепями α -D-ксилопиранозы и β -D-галактопиранозил-(1,2)- α -D-ксилопиранозы, связанными α (1,6) связью с глюкановыми остатками. Распределение остатков в боковых цепях различается для ксиллоглюканов различных видов.

Композиция из EP 1898876 B1 включает очищенный ксиллоглюкан в водном растворе в концентрациях от 0,05 до 5% массовых и глицерин в концентрации от 10 до 70% массовых. Этот документ не относится ни к слизистой желудочно-кишечного тракта, ни к лечению патологий, связанных с рефлюксом пищевода.

Следовательно, существует необходимость в эффективной композиции для лечения гастроэзофагеального рефлюкса, способной обеспечить барьер и/или связующий агент для агрессивных компонентов желудочного рефлюкса, содержащего кислоты и пепсин, и обеспечить эффективное лечение поражений и язв слизистой пищевода, а также обеспечить симптоматическое облегчение эзофагита, вызванного радиотерапией или химиотерапией.

Кроме того, было бы полезно иметь композиции, содержащие натуральные и эффективные агенты для лечения эзофагеального рефлюкса, которые вводят отдельно или в сочетании с другими лекарственными средствами при хорошем принятии пациентами.

Кроме того, было бы полезно иметь композиции, поддерживающие эффект с уменьшенным риском нежелательных явлений.

Сущность изобретения

Объектом изобретения является получение мукоадгезивной фармацевтической композиции для применения в лечении и профилактике гастроэзофагеального рефлюкса, содержащей сульфат хондроитина, ксиллоглюкан и глицерин.

Композиция для применения в соответствии с данным изобретением содержит сульфат хондроитина в концентрации от 0,5 до 5% (мас./об.), ксиллоглюкан в концентрации от 0,05 до 5% (мас./об.) и глицерин в концентрации от 10 до 70% (мас./об.), по отношению к объему конечной композиции, и, необязательно, фармацевтически приемлемые эксципиенты.

Композиция для применения в соответствии с данным изобретением может быть в единичной дозированной форме или в сиропе для перорального введения.

Согласно одному аспекту изобретения композиция имеет значения вязкости от 1 до 15 Па·с при скоростях сдвига от 0 до 1,5 с⁻¹, и значения вязкости ниже 1,5 Па·с при скорости сдвига выше 1,5 с⁻¹.

Согласно другому аспекту композиция в соответствии с данным изобретением имеет значение pH от 4,5 до 6,5.

Согласно другому аспекту изобретения фармацевтическую композицию применяют в лечении и для профилактики эрозивного гастроэзофагеального рефлюкса и не эрозивного гастроэзофагеального рефлюкса, вызванного плохими пищевыми привычками, побочными эффектами лекарственных средств, беременностью и ожирением.

Фармацевтическая композиция, содержащая сульфат хондроитина, ксилоглюкан и глицерин в соответствии с данным изобретением также применяется для облегчения эзофагита, вызванного радиотерапией или радио-химиотерапией.

Композиция в соответствии с данным изобретением может содержаться в лекарственном средстве или медицинском устройстве для применения в лечении и профилактике эрозивного (ГЭРБ) и не эрозивного (НЭРБ) гастроэзофагеального рефлюкса, вызывающего заболевания, такие как эзофагит, повреждения эндотелия, эрозии, язвы и гастрит, включая вызванные лекарственными средствами побочные повреждения.

Фармацевтическая композиция в соответствии с данным изобретением применяется для лечения всех типовых симптомов эрозивной (ЭРБ) и не эрозивной рефлюксной болезни (НЭРБ), таких как изжога, кислая отрыжка, загрудинная боль и кислый вкус во рту, и для лечения основных атипичных симптомов эрозивной и не эрозивной формы ГЭРБ, т.е. кашля, раздражающего кашля, хрипоты, ларингита, астмы и патологической стираемости зубов, предпочтительно раздражающего кашля, хрипоты.

Другим объектом изобретения является способ получения композиции, содержащей сульфат хондроитина, ксилоглюкан и глицерин, включающий стадии:

нагревания такого количества глицерина, чтобы получить конечную концентрацию от 10 до 70% (мас./об.), до температуры от 60 до 90°C, и добавления такого количества ксилоглюкана, чтобы получить конечную концентрацию от 0,05 до 5% (мас./об.);

снижения температуры до ниже 30°C;

добавления гомогенного раствора такого количества сульфата хондроитина, чтобы получить конечную концентрацию от 0,5 до 5% (мас./об.).

Подробное описание изобретения

Объектом данного изобретения является получение мукоадгезивной и гастропротекторной композиции, содержащей сульфат хондроитина, ксилоглюкан и глицерин в определенных количествах, применяемой для лечения и профилактики гастроэзофагеального рефлюкса.

Сульфат хондроитина, включенный в композицию в соответствии с данным изобретением, предпочтительно применяют в виде щелочной соли, предпочтительно натриевой соли, экстрагированной из слизистой животных.

В используемом в смысле описания термине "лечение" следует подразумевать "излечение" или "ремиссию" патологического состояния или заболевания, а также предотвращение или снижение, уменьшение, улучшение симптомов, связанных с распознанными патологическими состояниями в конце периода лечения относительно базовой линии.

Ксилоглюкан, включенный в композицию в соответствии с данным изобретением, предпочтительно экстрагируют из семян тамаринда, очищенных и не содержащих белок, полученных как описано в патенте EP 1898876 B1.

Композиция в соответствии с данным изобретением содержит сульфат хондроитина в концентрации от 0,5 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан в концентрации от 0,05 до 5% (мас./об.) и глицерин в концентрации от 10 до 70% (мас./об.) относительно объема конечной композиции, вместе с фармацевтически приемлемыми эксципиентами.

В предпочтительном аспекте композиция содержит сульфат хондроитина в концентрации от 1 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан в концентрации от 0,1 до 1% (мас./об.) и глицерин в концентрации от 10 до 50% (мас./об.), относительно объема конечной композиции.

Эксципиенты для жидких составов, обычно водных составов, суспензий или растворов могут содержать буферные агенты, такие как, например, фосфаты и бикарбонаты; антиоксиданты, такие как, например, метабисульфит натрия, сульфит натрия, лимонная кислота; загустители, такие как, например, производные целлюлозы, ксантановая камедь, аравийская камедь, крахмалы; консерванты, такие как метилпарабен, этилпарабен, этилендиаминтетраацетат натрия, бензоат натрия, сорбат калия; ароматизаторы и подсластители.

Подсластители могут быть натуральными, с сахарами или без сахаров, такими как, например, сахароза, декстроза, ксилит, маннит и сорбит, или синтетическими продуктами, такими как, например, сахарин и аспартам.

Ароматизаторами являются агенты, которые улучшают вкус, такие как экстракты фруктов, растений и цветов. Композиция в соответствии с данным изобретением характеризуется высокой приемлемостью и вкусовой привлекательностью даже без добавления ароматизаторов и подсластителей.

Композиция может содержать консерванты в концентрации от 0,001 до 0,1% (мас./об.), подсластители от 0 до 5,0% (мас./об.), ароматизаторы от 0 до 1,5% (мас./об.), загустители от 0,1 до 3,0% (мас./об.) и буферные агенты от 0,01 до 2,0% (мас./об.) относительно объема конечной композиции.

Композиция в соответствии с данным изобретением характеризуется значениями pH от 4,5 до 6,5, предпочтительно значениями от 5,0 до 6,0.

Например, композиция для применения в соответствии с данным изобретением содержит сульфат хондроитина натрия от 0,1 до 0,5 г, ксилоглюкан от 0,01 до 0,1 г и глицерин от 1 до 5 г. Более того, такая композиция может содержать фармацевтически приемлемые эксципиенты, включая консерванты, буферные агенты и загустители, и может быть разбавлена водой. Композиция может быть разбавлена вплоть до конечного объема 10 или 100 мл или до желаемого объема.

В одном аспекте композиция в соответствии с данным изобретением содержит 0,3 г сульфат хондроитина натрия, 0,04 г ксилоглюкана, 2 г глицерина, 0,01 г бикарбоната натрия, 0,0083 г ксантановой камеди, 0,2 г ксилита, 0,02 г бензоата натрия, 0,015 г апельсинового ароматизатора, 0,01 г лимонной кислоты, 0,02 г сорбата калия, 0,086 г гидроксипропилметилцеллюлозы и деминерализованную воду вплоть до 10 мл (композиция 1, пример 1).

Указанную композицию предпочтительно дозируют два раза в сутки (ДРС) или три раза в сутки (ТРС). Указанная композиция предпочтительно предназначена для лечения не эрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, и она может вводиться ДРС, ТРС или по необходимости.

Эта композиция может быть единичной композицией или ее количество может быть пропорционально увеличено для композиций многократного дозирования.

Было обнаружено, что композиция в соответствии с данным изобретением, содержащая сульфат хондроитина от 0,5 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан от 0,05 до 5% (мас./об.) и глицерин от 10 до 70% (мас./об.) по отношению к объему конечной композиции, дает растворы, характеризующиеся вязкоэластичным поведением. Такие растворы характеризуются значениями Модуля накопления (G'), которые снижаются при повышении приложенного напряжения, и значениями податливости (G''), которые повышаются при снижении приложенного напряжения. Модуль накопления G' представляет упругую часть вязкоупругого поведения, которая описывает поведение образца в твердом состоянии. Податливость G'' характеризует вязкую часть вязкоупругого поведения, которая может быть видна как поведение образца в жидком состоянии.

Композиции характеризуются не-Ньютоновским реологическим поведением, при котором вязкость изменяется в зависимости от приложенного усилия, где при повышенных значениях скорости сдвига показаны более низкие значения вязкости. Эта особенность полезна для состава для перорального введения, обладающего свойствами жидкости для легкого проглатывания, и свойствами твердого вещества, чтобы оставаться прилипшими к слизистой оболочке пищевода.

Для оценки эффекта объединения сульфата хондроитина с ксилоглюканом и глицерином в композиции в соответствии с данным изобретением, активность композиции в соответствии с данным изобретением сравнивают с активностью композиции, в которой ксилоглюкан и глицерин заменены агентом, обладающим мукоадгезивными свойствами, таким как полоксамер (сравнительная композиция 2).

Объединение сульфата хондроитина с ксилоглюканом и глицерином дает композиции, характеризующиеся вязкоэластичным поведением, со значениями вязкости в интервале от около 1 до около 15 Па·с при скорости сдвига от 0 до 1,5 с⁻¹, и значения вязкости ниже около 1,5 Па·с при скорости сдвига выше 1,5 с⁻¹.

Вязкость композиции 2 вместо этого не зависит от применяемой скорости сдвига.

Если деформация сдвига от 1 до 100% применяется к композиции в соответствии с данным изобретением, значения G' для нее варьируются в интервале от 4 до 1 Па, и значения G'' варьируются в интервале от 6 до 4 Па.

Композиция в соответствии с данным изобретением, содержащая сульфат хондроитина от 0,5 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан от 0,05 до 5% (мас./об.) и глицерин от 10 до 70% (мас./об.) дает синергетический мукоадгезивный эффект при сравнении с действием отдельных компонентов.

Мукоадгезивность определяется реологическими измерениями и ex-vivo экспериментами.

Вязкость композиции в соответствии с данным изобретением при смешивании с муцином в массовом соотношении 1:1 выше, чем сумма единичных вязкостей композиции и муцина, что свидетельствует о тесном взаимодействии между компонентами композиции и муцином.

Установлены реологический синергизм и нормализованный реологический синергизм ($\Delta\eta/\eta$) между мукоадгезивной композицией и муцином.

Нормализованный реологический синергизм рассчитывают экспериментальными измерениями как разность между вязкостью композиции смеси/муцина и суммой отдельных вязкостей мукоадгезивной композиции и муцина по отношению к вязкости мукоадгезивной композиции (ссылку на расчет можно найти у Fini A et al, *Pharmaceutics* 2011, 3, 665-679).

Реологический синергизм между муцином и полимерной композицией является признанной in vitro мерой мукоадгезии самой композиции, как описано у Hassan EE, Gallo JM, *Pharm. Res.* 1990; 7 (5): 491-495.

Значения реологического синергизма для композиции в соответствии с данным изобретением (композиция 1) и муцина в массовом соотношении 1:1 увеличиваются при увеличении применяемой скорости

сдвига, тогда как значение вязкости уменьшается. Отсутствие линейности между вязкостью и мукоадгезией согласуется с не-Ньютоновским поведением композиции в соответствии с данным изобретением.

В сравнительной композиции, в которой глицерин и ксилотриглицерид были заменены полоксамером, значения реологического синергизма снижались при увеличении применяемой скорости сдвига.

Композиция в соответствии с данным изобретением обеспечивает адгезию и защиту слизистой оболочки пищевода от кислых и/или раздражающих агентов путем формирования пленочного слоя. Из микроскопического анализа тканей слизистой оболочки пищевода, окрашенных Evans Blue, было видно, что в фрагментах слизистой оболочки, которые ранее не были обработаны композицией в соответствии с данным изобретением, краситель проникает в слои многослойного плоского эпителия, распространяясь по всему тонкому слою, т.е. он выходит за пределы слизистой оболочки мышц в подслизистую; наоборот, во фрагментах, предварительно обработанных композицией в соответствии с данным изобретением, сигнал красителя показывает, что он не проникает во все слои многослойного эпителия.

Композиция в соответствии с данным изобретением остается прилипшей к слизистой оболочке желудка и пищевода и способна защитить ее вплоть до подслизистой мембраны; она противостоит эффекту вымывания жидких пищевых продуктов, напитков и слюны, благодаря чему язвы заживают и восстанавливаются.

Композицию в соответствии с данным изобретением проанализировали в трехмерной модели, предоставляя полезный инструмент для оценки безопасности готового продукта и его биосовместимости в качестве медицинского устройства, также позволяя определить природу его механизма действия путем предоставления доказательства его поверхностного воздействия на барьеры тела.

Используя такую 3D модель, оценивают проницаемость композиций в соответствии с данным изобретением для прохождения ссыльного соединения с низкой липофильностью. Кофеин является ссыльным соединением в соответствии с Руководством по испытаниям химических веществ (OECD No. 428, 13 апреля 2004, абсорбция в кожу, способ *in vitro*). Композиции в соответствии с данным изобретением анализируют по сравнению с физиологическим раствором (отрицательный контроль) и вазелином (положительный контроль). Композиция в соответствии с данным изобретением, содержащая сульфат хондроитина в концентрации от 0,5 до 5% (мас./об.), глицерин в концентрации от 10 до 70% (мас./об.) и ксилотриглицерид в концентрации от 0,05 до 5% (мас./об.), обеспечивает барьер для раздражающих агентов, и низкую проницаемость по сравнению с композицией, в которой сульфат хондроитина в тех же концентрациях объединен с мукоадгезивным агентом, таким как Poloxamer 407® (композиция 2).

Композиция в соответствии с данным изобретением эффективна при лечении эзофагеального рефлюкса через образование пленочного барьера на слизистой оболочке пищевода, и она не вызывает какого-либо повреждения клеток, в других случаях критически важного для основных физиологических процессов. Это было продемонстрировано с помощью измерений трансэпителиального электрического сопротивления (ТЭЭС) и оценки проницаемости клеток с помощью измерений флуоресценции. Композиция в соответствии с данным изобретением сохраняет стабильность барьера, создаваемого на слизистой оболочке пищевода, важного для всех физиологических процессов. ТЭЭС, измеренное через после 6 ч после обработки композицией в соответствии с данным изобретением, показывает значения, аналогичные тем, которые дает ткань, обработанная физиологическим раствором, демонстрируя, что параклеточный поток на уровне эпителиальной слизистой оболочки не подвергался влиянию. Это также подтверждается измерениями флуоресценции с использованием красителя LuciferYellow, флуоресцентной молекулы, для которой непроницаема клеточная мембрана. Из измерений флуоресценции двух отделений, разделенных эпителиальной тканью, обработанной композицией в соответствии с данным изобретением, подтверждают целостность клеточных соединений.

Следующие чертежи поясняют предмет настоящего изобретения.

На фиг. 1 показана вязкость композиции 1 (в соответствии с данным изобретением) и композиции 2 (сравнительной).

На фиг. 2 показан модуль накопления (G') и податливость (G'') композиции 1 (в соответствии с данным изобретением).

На фиг. 3 показана податливость (G'') композиции 2 (сравнительной).

На фиг. 4 и 5 показаны значения вязкости для композиции 1 (в соответствии с данным изобретением) и композиции 2 (сравнительной) как функции от применяемой скорости сдвига, определенной измерением взаимодействия с муцином.

Композиция в соответствии с данным изобретением может содержаться в лекарственном продукте или в медицинском устройстве для применения при лечении и профилактике патологий, связанных с эрозивной (ГЭРБ) и не эрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (НЭРБ), эзофагитом, повреждениями эпителия двенадцатиперстной кишки, такими как эрозии и язвы, гастриты, включая побочные эффекты лекарств. Такая композиция полезна для лечения гастроэзофагеального рефлюкса, уменьшая такие симптомы, как желудочная изжога, боль в эпигастрии, ожоги, загрудинная боль, кислая отрыжка, кислый вкус во рту, раздражительный или жгучий кашель и хрипота.

Композиция в соответствии с данным изобретением может применяться для защиты слизистой оболочки пищевода от эрозии под воздействием пищевых продуктов, лекарств и кислой отрыжки, которые

могут проникать и вызывать раздражение, или расстройствами, вызванными беременностью, ожирением и стрессом.

Защитное действие на слизистую оболочку происходит без изменения ее физиологического механизма, без побочных эффектов и при хорошем принятии субъектами.

Композицию в соответствии с данным изобретением готовят способом, в котором ксилотриглицерид добавляют к предварительно нагретому глицерину при температуре от 60 до 90°C, и к полученному гомогенному раствору добавляют сульфат хондроитина при температуре ниже 30°C. К гомогенной композиции необязательно добавляют буферные агенты, антиоксиданты, загустители, консерванты, ароматизаторы и подсластители.

Композицию в соответствии с данным изобретением готовят способом, включающим стадию нагревания при температуре от 60 до 90°C такого количества глицерина, чтобы получить конечную концентрацию от 10 до 70% (мас./об.) и добавления при перемешивании такого количества ксилотриглицерида, чтобы получить конечную концентрацию от 0,05 до 0,5% (мас./об.) от общей композиции. Смесь затем перемешивают до полного растворения. Могут быть необязательно добавлены загустители, и затем смесь разбавляют водой, предварительно нагретой при температуре от 60 до 90°C, в количестве вплоть до 5-кратного количества глицерина согласно желаемому конечному объему. Гомогенный раствор затем охлаждают до комнатной температуры, ниже 30°C.

Далее способ получения включает стадию добавления к гомогенному раствору при температуре ниже 30°C такого количества сульфата хондроитина, чтобы получить конечную концентрацию от 0,5 до 5% (мас./об.) от общей композиции.

Могут быть добавлены фармацевтически или алиментарно приемлемые эксципиенты или носители.

Полученный раствор предпочтительно разделяют на однодозовые упаковки, флаконы или бутылки для сиропа, например, для педиатрической дозировки.

Было показано, что композиция в соответствии с данным изобретением, подвергнутая тестированию стабильности при 25 и 40°C, является стабильной при обеих температурах в течение по крайней мере 3 месяцев.

Композиция в соответствии с данным изобретением имеет хорошие вкусовые качества и переносимость людьми и не имеет токсических эффектов.

Композиция в соответствии с данным изобретением может вводиться в любое время суток, например после основных приемов пищи и перед сном, один раз, два раза, три раза в сутки или по необходимости. Композиция не имеет побочных эффектов, она хорошо переносится, и ее можно вводить в течение одной недели или дольше, а введение может повторяться.

Композиция в соответствии с данным изобретением в клиническом исследовании, проведенном на пациентах с атипичными симптомами, связанными с НЭРБ, такими как хрипота и раздражающий кашель, оказалась эффективной при введении как два, так и 3 раза в сутки, со значительным уменьшением симптомов и повышением качества жизни.

Композиция в соответствии с данным изобретением обеспечивает быстрое и эффективное введение как для длительного лечения, так и для немедленного применения.

Композицию в соответствии с данным изобретением можно вводить в сочетании с фармацевтическими агентами для лечения гастроэзофагеального рефлюкса, такими как ингибиторы протонного насоса (ИПН), или прокинетические или противокислотные лекарственные средства или другие.

Композиции в соответствии с данным изобретением изобретению могут быть включены в наборы в виде упаковок с однократной дозой, стиков или флаконов для однократной или многократной дозы для перорального введения.

Примеры

Пример 1. Получение композиции в соответствии с данным изобретением (композиции 1).

В нагревательном смесителе количество 30 кг глицерина нагревают при температуре около 80°C, затем 1,29 кг гидроксипропилметилцеллюлозы, 0,6 кг ксилотриглицерида и 0,125 кг ксантановой камеди добавляют к глицерину при перемешивании. Смесь перемешивают в течение около 20 мин до полной гомогенизации. Затем добавляют 40 л воды при температуре около 80°C и перемешивание продолжают в течение еще около 20 мин до полного растворения компонентов. К полученному раствору добавляют около 120 л воды при около 80°C, и температуру понижают ниже 30°C. Затем добавляют смесь 4,5 кг сульфата хондроитина натрия; 3,0 кг ксилита; 0,15 кг бикарбоната натрия; 0,3 кг бензоата натрия; 0,3 кг сорбата калия; 0,18 кг апельсинового ароматизатора и 0,15 кг лимонной кислоты при перемешивании.

Раствор доводят до объема 150 л с водой и делят на 10 мл стики.

Раствор характеризуется значением pH $5,5 \pm 0,2$ и вязкостью 1,6 Па·с при скорости сдвига 1 с^{-1} .

Единичная композиция (концентрация г/мл) стиков композиции 1 показана в табл. 1.

Таблица 1

Компонент (композиция 1)	Концентрация (г/10 мл стик)	Концентрация % (масс./об.)
Сульфат хондроитина натрия	0,3	3
Ксилоглюкан	0,04	0,4
Глицерин	2,0	20
Бикарбонат натрия	0,01	0,1
Ксантановая камедь	0,0083	0,083
Ксилит	0,2	2
Бензоат натрия	0,02	0,2
Апельсиновый ароматизатор	0,015	0,15
Лимонная кислота	0,01	0,1
Сорбат калия	0,02	0,2
Гидроксипропилметилцеллюлоза	0,086	0,86
Деминерализованная вода	д.к. до 10 мл	

Пример 2. Получение гастропротекторной композиции (композиция 2 - сравнительная).

В смеситель добавляют 312 г сульфата хондроитина натрия, 124 г гиалуроната натрия, 2248 г ксилита и 5 л воды при перемешивании, и раствор выдерживают при 60°C при перемешивании до растворения. Затем добавляют 270 г Poloxamer 407®, 250 г поливинилпирролидона, 10 г бикарбоната натрия, 9 г бензоата натрия, 2 г ароматизатора красного винограда, 18 г сорбата калия, 4 М хлористоводородной кислоты в достаточном количестве до pH 5,0±0,2 и деминерализованную воду до 10 л.

Суспензию перемешивают в течение 15 мин при комнатной температуре и затее делят на 10 мл стики.

Единичная композиция композиции 2 показана в табл. 2.

Таблица 2

Компонент (композиция 2)	Концентрация (г/10 мл)	Концентрация % (масс./об.)
Сульфат хондроитина натрия	0,312	3,12
Гиалуронат натрия	0,124	1,24
Poloxamer 407®	0,270	2,7
Бикарбонат натрия	0,01	0,1
Поливинилпирролидон	0,250	2,5
Ксилит	2,248	22,48
Бензоат натрия	0,009	0,09
Ароматизатор красный виноград	0,002	0,02
Сорбат калия	0,018	0,18
Хлористоводородная кислота 4М	д.к. до pH 5,0±0,2	
Деминерализованная вода	д.л. до 10 мл	

Композиция имеет вязкость 0,0463 Па·с при скорости сдвига 1 с⁻¹.

Пример 3. Определение реологических параметров композиций 1 и 2.

А) Определение вязкости.

Значения вязкости для композиции 1, полученной по примеру 1, и композиции 2, полученной по примеру 2, измеряют при 37°C на Anton Paar Rheometer, модель MCR 101, с геометрией усеченного конуса диаметром 50 мм.

В табл. 3 показаны значения вязкости как функция от повышения скорости сдвига для композиций 1 и 2, и они представлены на фиг. 1.

Таблица 3

Скорость сдвига (с ⁻¹)	Вязкость композиции 1 (Па•с)	Вязкость композиции 2 (Па•с)
0,00996	6,82	<ПКО
0,0146	9,2	<ПКО
0,0215	10,2	<ПКО
0,0315	10,3	<ПКО
0,0463	9,79	<ПКО
0,0679	8,84	<ПКО
0,0999	7,62	<ПКО
0,147	6,03	<ПКО
0,215	4,79	<ПКО
0,316	3,49	<ПКО
0,464	2,72	0,0470
0,682	2,11	0,0455
1,0	1,63	0,0463
1,47	1,35	0,0469
2,15	1,17	0,0474
3,16	1,03	0,0475
4,64	0,931	0,0477
6,81	0,835	0,0482
10	0,743	0,0484
14,7	0,658	0,0486
21,5	0,583	0,0487
31,6	0,511	0,0486
46,4	0,445	0,0484
68,1	0,389	0,0483
100	0,340	0,0483

ПКО=предел количественного определения.

В) Определение Модуля накопления (G') и Податливости (G'').

Значения G' и G'' получают на Anton Paar Rheometer, модель MCR 101, при 37°C с геометрией усеченного конуса диаметром 50 мм.

В табл. 4 представлены значения G' и G'' для композиций 1 и 2.

Таблица 4

Натяжение %	Модуль накопления G' (Па)	Модуль накопления G' (Па)	Податливость G'' Композиция 1 (Па)	Податливость G'' Композиция 2 (Па)
	(композиция 1) (Па)	композиция 2 (Па)	(Па)	(Па)
1	2,91	<ПКО	5,07	0,372
1,46	2,95	<ПКО	5,07	0,322
2,14	2,96	<ПКО	5,05	0,318
3,17	2,96	<ПКО	5,05	0,326
4,64	2,97	<ПКО	5,05	0,314
6,82	2,94	<ПКО	5,06	0,309
10	2,91	<ПКО	5,06	0,305
14,7	2,85	<ПКО	5,05	0,303
21,5	2,77	<ПКО	5,03	0,304
31,7	2,67	<ПКО	4,99	0,303
46,5	2,53	<ПКО	4,94	0,304
68,1	2,34	<ПКО	4,85	0,303
100	2,08	<ПКО	4,69	0,303

На фиг. 2 показан модуль накопления (G') и податливость (G'') композиции 1 как функция от процента применяемого натяжения сдвига.

На фиг. 3 показана податливость (G'') композиции 2 как функция от как функция от процента применяемого натяжения сдвига.

Пример 4. Определение мукоадгезивности через реологические измерения.

А) Определение вязкости.

Готовят следующие водные растворы (Р-р) А-Е. Во время приготовления ингредиенты перемешивают в течение около 30 мин.

Для определения применяют муцин из свиного желудка II типа (Sigma-Aldrich).

Растворы	Композиция
Р-р А	Муцин 6% (масс./масс.)
Р-р В	Муцин 12% (масс./масс.)
Р-р С	Композиция 1 [1:1 разбавленная водой (масс./масс.)]
Р-р D	Композиция 1 [1:1 разбавленная муцином 12% (масс./масс.)]
Р-р Е	Композиция 2 [1:1 разбавленная водой (масс./масс.)]
Р-р F	Композиция 2 [1:1 разбавленная муцином 12% (масс./масс.)]

В табл. 5 показаны значения вязкости растворов А, С и D как функция от различной применяемой скорости сдвига. В четвертой колонке таблицы представлено значения вязкости (С+А), т.е. сумма вязкости раствора С и вязкости раствора А. В шестой колонке таблицы представлены значения нормализованного реологического синергизма ($\Delta\eta$), полученные по формуле

$$\Delta\eta (\text{Композиция 1 - муцин}) = (\text{Вязкость р-р D} - (\text{вязкость р-ра А} + \text{вязкость р-ра С})) / \text{Вязкость р-ра С}$$

Таблица 5. Реологический синергизм композиции 1 - муцин (раствор D)

Скорость сдвига (с^{-1})	Вязкость р-р С ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость р-р А ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость (С+А) ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость р-р D ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	$\Delta\eta$ (Композиция 1 - муцин)
3,16	0,1210	0,0345	0,1555	0,343	1,55
4,64	0,0989	0,0340	0,1329	0,312	1,81
6,81	0,0850	0,0331	0,1181	0,284	1,95
10	0,0744	0,0323	0,1067	0,259	2,04
14,70	0,0656	0,0312	0,0968	0,237	2,14
21,50	0,0589	0,0301	0,0890	0,217	2,17
31,60	0,0533	0,0293	0,0826	0,199	2,18
46,40	0,0483	0,0279	0,0762	0,182	2,19
68,10	0,0437	0,0270	0,0707	0,165	2,16
100	0,0398	0,0261	0,0659	0,149	2,08

В табл. 6 показаны значения вязкости растворов А, Е и F как функция от различной применяемой скорости сдвига. В четвертой колонке таблицы представлено значения вязкости (Е+А), т.е. сумма вязкости раствора Е и вязкости раствора А. В шестой колонке таблицы представлены значения нормализованного реологического синергизма ($\Delta\eta$), полученные по формуле

$$\Delta\eta (\text{Композиция 2 - муцин}) = (\text{Вязкость р-ра F} - (\text{вязкость р-ра Е} + \text{вязкость р-ра А})) / \text{Вязкость р-ра Е}$$

Таблица 6. Реологический синергизм композиции 2 - муцин (раствор F)

Скорость сдвига (с^{-1})	Вязкость р-р Е ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость р-р А ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость (Е+А) ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	Вязкость р-р F ($\text{Па}\cdot\text{с}$)	$\Delta\eta$ (Композиция 2 - муцин)
3,16	0,00762	0,0345	0,0421	0,1210	10,35
4,64	0,00762	0,0340	0,0416	0,1190	10,15
6,81	0,00756	0,0331	0,0407	0,1170	10,09
10	0,00766	0,0323	0,0400	0,1150	9,79
14,70	0,00788	0,0312	0,0391	0,1120	9,25
21,50	0,00809	0,0301	0,0382	0,1090	8,75
31,60	0,00819	0,0293	0,0375	0,1060	8,36
46,40	0,00813	0,0279	0,0360	0,1020	8,11
68,10	0,00806	0,0270	0,0351	0,0979	7,79

100	0,00807	0,0261	0,0342	0,0937	7,37
-----	---------	--------	--------	--------	------

В табл. 5 показаны повышенные значения реологического синергизма при применении повышенной скорости сдвига для композиции 1. Наоборот, в таблице 6 показано отсутствие реологического синергизма для композиции 2 при применении повышенной скорости сдвига.

На фиг. 4 и 5 показаны значения вязкости для композиций 1 и 2 как функция от применяемой скорости сдвига.

Пример 5. Определение мукоадгезивности через измерения поверхностной адгезии.

Целью следующего эксперимента является оценка и сравнение адгезионной способности композиции в соответствии с данным изобретением (композиция 1) к слизистой и стойкости к выщелачиванию в отношении гастропротекторной композиции, имеющей состав из примера 2 (композиция 2).

Ситуацию *in vivo* воспроизводят, приклеивая составы к покрытой муцином пластиковой поверхности, имитирующей поверхность слизистой пищевода, и измеряя количество композиции, прилипшей на единицу поверхности.

Процент композиции, прилипшей к поверхности, является прямым показателем способности композиции прилипнуть к слизистой пищевода и сопротивляться выщелачивающей слюне.

Водную суспензию муцина с концентрацией 12% (мас./мас.) гомогенно наносят на две пластиковые поверхности, выдерживают при 70°C в течение 45 мин и затем охлаждают до комнатной температуры.

Затем 2,5 мл композиций 1 и 2 гомогенно наносят на одну из двух пластиковых поверхностей с приклеенным муцином; затем поверхности наклоняют на 90° в течение 6 минут, давая избытку не прилипшей композиции стечь с поверхности.

Процент композиции, прилипшей к муциновой пленке на пластиковой поверхности рассчитывают по следующей формуле

$$\% \text{ прилипшей композиции} = (\text{мг оставшейся композиции} / \text{мг исходной композиции}) \times 100\%$$

Значения адгезии композиции 1 и композиции 2 определяют через количество каждой композиции, прилипшей к муциновой пленке, на единицу поверхности.

Для воспроизводства воздействия слюны на проглоченную композицию в пищеводе, две покрытые муцином пластиковые поверхности с прилипшей композицией затем погружают на 30 с в два отдельных химических стакана, содержащих 200 мл воды, и затем поверхности наклоняют на 90° в течение 6 мин.

После стадии промывки снова определяют количество прилипшей композиции на единицу поверхности муциновой пленки, покрывающей пластиковую поверхность.

Через соотношение количества прилипшей композиции до и после стадии промывки рассчитывают процент изменения массы из-за потери композиции в промывке или абсорбции воды.

$$\% \text{ изменения массы композиции} = ((\text{мг композиции до промывки} - \text{мг композиции после промывки}) / \text{мг композиции до промывки}) \times 100$$

Таблица 7

Образец	Процент композиции, прилипшей к муциновой пленке, % (масс./масс.)	Количество композиции, прилипшей на единицу поверхности (мг/см ²)	Количество композиции, прилипшей на единицу поверхности после промывки (мг/см ²)
Композиция 1	32,0±5,2	70,8±1,0	72,9±4,2
Композиция 2	46,0±2,3	56,6±9,1	56,8±6,6

Результаты показывают, что композиция 1 остается в большей степени прилипшей к муциновой пленке и более устойчива к смыванию, чем композиция 2.

Пример 6. Определение мукоадгезивности *in vivo* моделях.

Мукоадгезивность композиции 1 подтверждают *in vivo* экспериментальной модели с применением центральных пищеводных путей свиней и сравнивают с композицией 2 и с коммерческим продуктом Gaviscon® в саше.

Весь пищевод в его цилиндрической структуре, лишенный мышечной ткани, обрабатывают свиным пепсином (2000 ед./мл) в физиологическом растворе при pH 2,0. Затем слизистую промывают физиологическим раствором. Весь цилиндрический пищевод открывают для обнажения внутренней слизистой и делят на куски для последующего анализа.

Фрагменты слизистой пищевода делят на две группы, образцы А и образцы В, и обрабатывают как описано ниже.

Образцы А обрабатывают одной из тестируемых композиций (композиция 1, композиция 2 или Gaviscon®) и затем окрашивают красителем Evans Blue (EB), получая образцы А1, А2 и А3, соответственно.

Образцы В обрабатывают одной из тестируемых композиций (композиция 1, композиция 2 или Gaviscon®), затем промывают физиологическим раствором и затем окрашивают EB с получением образцов В1, В2 и В3, соответственно.

Ссылочный образец вместо этого обрабатывают только ЕВ.

Два разных аналитических способа проводят для определения количества красителя, присоединенного к слизи, т.е. спектрофотометрический анализ и анализ эпифлуоресцентной микроскопией.

А) Спектрофотометрическое определение.

Группу образцов А и В и ссылочный образец, после промывания для удаления избытка красителя, сушат при 37°C в течение 30 мин, взвешивают и затем погружают в 3 мл формамида при 50°C на 48 ч. Количество красителя, экстрагированного в раствор формальдегида, определяют спектрофотометрическим измерением, абсорбцией при 620 нм, сравнивают со стандартной кривой.

В табл. 8 показана нормализованная абсорбция, выраженная как разница (А) по сравнению со значением абсорбции ссылочного образца, и нормализуют к массе образцов ткани (выраженной в мг) по формуле:

$$\text{Нормализованная абсорбция} = (\text{абсорбция } (\Delta) \text{ (нм) / массу (мг)}) \times 1000$$

Наиболее высокие значения соответствуют наибольшему защитному действию.

Таблица 8

Образец	Нормализованная абс.	Нормализованная абс. после промывания
Композиция 1	16,6	14,6
Композиция 2	19,4	7,9
Gaviscon®	19,6	17,9

Результаты в табл. 8 показывают, что композиция 1 обеспечивает высокое защитное действие.

В) Определение анализом эпифлуоресцентной микроскопией.

После обработки композицией 1, композицией 2 или Gaviscon®, как описано выше, группу образцов слизистой пищевода обрабатывают 4% (об./об.) формальдегидом при pH 7,4 в течение ночи при 4°C, затем промывают фосфатным буфером и, наконец, переносят в сахарозный 25 мас.% физиологический раствор с фосфатным буфером при 4°C. Гистологические образцы затем хранят при -80°C и затем разрезают на серийные отрезки толщиной 10 мкм и помещают на предметные стекла. Образцы анализируют эпифлуоресцентной микроскопией.

Микроскопический анализ отрезков показал:

в слизистой пищевода, поврежденной свиным пепсином и обработанной только ЕВ (ссылочный образец), краситель проникает в слои многослойного плоского эпителия, поражая весь тонкий слой, проходят через весь слой мышечной пластинки слизистой оболочки до подслизистой оболочки;

образцы, обработанные композицией 1, показали очень интенсивное фоновое окрашивание и сигнал красителя только в некоторых слоях многослойного эпителия;

образцы, обработанные композицией 2, показали, что окрашивание ЕВ присутствует в некоторых слоях эпителия, но не в подслизистой оболочке, интенсивно флуоресцируя в областях эпителия с кератином;

образцы, обработанные Gaviscon® показали окрашивание ЕВ только в некоторых слоях эпителия.

Пример 7. In vitro определение защитного действия композиции 1 и композиции 2 через измерения проницаемости.

Кофеин рекомендован как ссылочное соединение с низкой липофильностью для исследований трансдермальной абсорбции согласно Guideline for the Testing of Chemicals (OECD No. 428, 13 апреля 2004, абсорбция кожи, способ in vitro) для оценки проницаемости. Для способности преодолевать эпителиальный барьер даже при отсутствии повреждений, кофеин используют в качестве пробы для оценки склонности данной композиции к образованию защитной пленки: уменьшение прохождения кофеина через модель биологической ткани является показателем способности к образованию пленки.

В качестве модели 3D эпителиальной ткани используют реконструированный эпителий пищевода человека производства Episkin, France (размер 0,5 см² и толщина 100 мкм).

Образцы реконструированного эпителия пищевода человека обрабатывают в течение 3 ч тестируемыми композициями: композиция 1, композиция 2, физиологический раствор (отрицательный контроль) или вазелин (положительный контроль); затем наносят 100 мкл 0,5% (мас./об.) раствора кофеина в аппикальный (донорский) отдел еще на 3 ч. Через один, два и три часа после нанесения раствора кофеина систему промывают 1 мл физиологического раствора и жидкость собирают для последующего анализа.

Количество проникшего кофеина определяют ВЭЖХ хроматографическим анализом с датчиком УФ-ДМД при 275 нм с применением колонки с обращенной фазой (ZORBAX Eclipse XDB-C18) с частицами диаметром 5 мкм и размером 150×4,6 мм.

Кофеин элюируют: фаза А, ацетат аммония 10 мМ; фаза В, ацетонитрил/метанол 1:1, с линейным градиентом от 20 до 80% фазы В за 10 мин. Определение кофеина проводят с помощью калибровочной кривой.

В табл. 9 показан процент кофеина, проникшего через мембрану.

Таблица 9

	Кофеин, проникший в модель эпителия пищевода, % (масс./масс.)			
Время	Физиологический раствор	Вазелин	Композиция 1	Композиция 2
T=1 ч	31,68±2,62	9,38±0,03	12,42±0,01	14,90±0,03
T= 2 ч	20,12±0,04	0,00±0,00	13,33±0,05	15,99±0,05
T= 3 ч	12,43±0,01	0,00±0,00	13,16±0,04	15,29±0,04

Результаты подтверждают пленочную эффективность композиции 1, которая позволяет снизить проникновение кофеина через 3D модель эпителия больше, чем композиция 2.

Пример 8. Определение барьерной функции измерением транс-эпителиального электрического сопротивления (ТЭЭС) композиции 1 и композиции 2.

Транс-эпителиальное электрическое сопротивление (ТЭЭС) является мерой движения ионов через трансклеточный путь, регулируемый поляризованными поверхностями клеточной мембраны и плотным соединением клетки с клеткой, которые вместе растворенных веществ и ионов через эпителий. Таким образом, ТЭЭС является косвенной оценкой стабильности плотных соединений и прямой мерой функциональности барьерной функции в эпителиальной ткани, давая информацию об общем сопротивлении эпителиального слоя.

Оценку барьерной функции тестируемой композиции проводят через измерение транс-эпителиального электрического сопротивления тех же 3D образцов эпителия, полученных и применяемых как описано в примере 7, применяя переменный ток с частотой 12,5 Гц с последующим промыванием для удаления исследуемых композиций и кофеина через 6 ч после обработки.

В табл. 10 показаны значения ТЭЭС образцов, обработанных композициями 1 и 2 по сравнению с образцами, обработанными физиологическим раствором и вазелином в нулевой момент времени (T0) и в конце обработки (T=6 ч).

Таблица 10

Сопротивление на единицу поверхности (ом*см ²)	Физиологический раствор	Вазелин	Композиция 1	Композиция 2
T=0	56,72	57,61	62,00	60,72
T=6 ч	60,89	61,33	57,17	53,06

Данные транс-эпителиального электрического сопротивления (ТЭЭС) подтверждают, что композиция в соответствии с данным изобретением (композиция 1) не оказывает влияния на параклеточный поток через эпителиальную слизистую и сохраняет функциональную целостность даже после обработки.

Пример 9. Определение целостности мембраны через измерение флуоресценции композиции 1 и композиции 2.

Lucifer Yellow является флуоресцентным красителем, для которого клеточная мембрана непроницаема: его применяют для исследования параклеточной проницаемости вещества: когда соединения являются нетронутыми, Lucifer Yellow имеет очень низкую проницаемость, если соединения повреждены, поток Lucifer Yellow возрастает. Поэтому анализ Lucifer Yellow применяют для подтверждения целостности клеточных соединений в присутствии оцениваемых композиций, в этом случае после обработки композициями 1 и 2 и контролем. Эксперимент проводят на образцах реконструированного человеческого эпителия пищевода, полученных как описано в примере 8.

Объем 0,5 мл Lucifer Yellow (500 мкМ в физиологическом растворе) наносят на апикальный отдел образцов мембраны (обработанных композицией 1, композицией 2, физиологическим раствором или вазелином) и 1 мл физиологического раствора добавляют на базолатеральный отдел. Через один час инкубирования при 37°C перенос красителя из апикального в базолатеральный отдел оценивают через измерение флуоресценции апикального отдела в нулевой момент времени (t=0). В конце 1-часового инкубирования измеряют флуоресценцию базолатерального отдела. Измерения получают на спектрофлуориметре (TECAN INFINITE M200) с 428 нм возбуждением и 535 нм испусканием.

В табл. 11 показан процент потока Lucifer Yellow из апикального отдела в базолатеральный отдел, рассчитанный по следующей формуле

$$(\text{Базолатеральная флуоресценция} / \text{Апикальная флуоресценция (t=0)}) \times 100 = \text{поток Lucifer Yellow (\%)}$$

Таблица 11

	Поток Lucifer Yellow (%)
Физиологический раствор	8,38
Вазелин	8,57
Композиция 1	8,10
Композиция 2	9,19

Результаты показывают, что не существует значительной разницы между образцами, обработанными композициями 1, 2, отрицательным или положительным контролем, подтверждая, что обе композиции сохраняют барьерную целостность и функциональность клеточных соединений.

Пример 10. Определение стабильности композиции 1.

Композицию 1, разделенную на шаше, анализируют на стабильность при 25 и 40°C в течение 1 (Т1) и 3 (Т3) месяцев и сравнивают с композицией в нулевой момент времени (Т0).

Стабильность определяют через измерения pH и плотности и оценку внешнего вида композиции согласно табл. 12.

Таблица 12

	T0	T1 (25°C)	T1 (40°C)	T3 (25°C)	T3 (40°C)
Внешний вид	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная	прозрачная
pH	5,4	5,5	5,4	5,5	5,4
Плотность (г/мл)	1,07	1,07	1,07	1,07	1,07

Пример 11. Клиническое исследование.

Предварительное рандомизированное клиническое исследование в двух параллельных группах проводят для оценки действия введения композиции 1, полученной по примеру 1, на типовые симптомы, продемонстрированные пациентами с не эрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (НЭРБ).

Для исследования не эрозивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (НЭРБ), в исследование включают взрослых (возраст >18 лет) пациентов, мужчин и женщин, с типовыми симптомами рефлюкса, т.е. изжогой, кислой отрыжкой, загрудинной болью и кислым вкусом во рту. По крайней мере два из вышеперечисленных симптомов должны были присутствовать в течение последних трех месяцев и по крайней мере три раза в неделю в течение месяца, предшествующего посещению для скрининга. Диагноз НЭРБ основывают на отсутствии макроскопических поражений слизистой оболочки пищевода при эндоскопии, а также на позитивности анкеты для оценки выраженности симптомов.

Два пациента получают композицию 1, в стике 10 мл ДРС, и два пациента получают композицию 1 в стике 10 мл ТРС.

Первичной конечной точкой исследования является снижение типовых симптомов рефлюкса в конце периода лечения (14 дней) по отношению к базовой линии, определенной в Т0, оцененных с применением оценки Опросника рефлюксной болезни - ОРБ.

У всех пациентов, получавших композицию 1 ДРС или ТРС, отмечается благоприятное действие на снижение атипичных симптомов, связанных с НЭРБ, таких как, хрипота и раздражающий кашель, с повышенным КЖ при демонстрации того, что эффективность этой композиции обеспечивается также при низких ежедневных введениях.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Мукоадгезивная композиция для лечения или профилактики гастроэзофагеального рефлюкса, содержащая сульфат хондроитина в концентрации от 0,5 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан в концентрации от 0,05 до 5% (мас./об.), глицерин в концентрации от 10 до 70% (мас./об.) относительно объема конечной композиции, и фармацевтически приемлемые эксципиенты.

2. Композиция по п.1, содержащая сульфат хондроитина в концентрации от 1 до 5% (мас./об.), ксилоглюкан в концентрации от 0,1 до 1% (мас./об.) и глицерин в концентрации от 10 до 50% (мас./об.) относительно объема конечной композиции, и, необязательно, фармацевтически приемлемые эксципиенты.

3. Композиция по п.2, содержащая сульфат хондроитина натрия от 0,1 до 0,5 г, ксилоглюкан от 0,01 до 0,1 г, глицерин от 1 до 5 г, фармацевтически приемлемые эксципиенты и воду вплоть до объема 10 мл.

4. Композиция по п.3, содержащая сульфат хондроитина натрия 0,3 г, ксилоглюкан 0,04 г, глицерин 2 г, бикарбонат натрия 0,01 г, ксантановую камедь 0,0083, ксилит 0,2 г, бензоат натрия 0,02 г, ароматизатор апельсин 0,015 г, лимонную кислоту 0,01 г, сорбат калия 0,02 г, гидроксипропилметилцеллюлозу 0,086 г и воду вплоть до объема 10 мл.

5. Композиция по любому из пп.1-4 в единичной дозированной форме или в сиропе для перорального введения.

6. Композиция по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что она имеет значения вязкости от 1 до 15 Па·с при скоростях сдвига от 0 до 1,5 с⁻¹, и вязкостями ниже 1,5 Па·с при скоростях сдвига выше 1,5 с⁻¹.

7. Композиция по любому из пп.1-6, отличающаяся тем, что имеет значения pH от 4,5 до 6,5.

8. Композиция по любому из пп.1-4, отличающаяся тем, что ксилоглюканом является очищенный ксилоглюкан.

9. Применение композиции по любому из пп.1-8 для получения фармацевтического продукта или

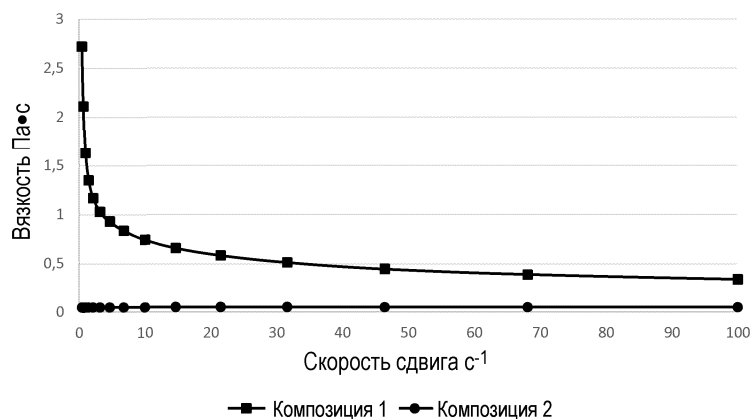
медицинского устройства для перорального введения для лечения или профилактики гастроэзофагеального рефлюкса.

10. Способ лечения или профилактики гастроэзофагеального рефлюкса, включающий введение композиции по любому из пп.1-8.

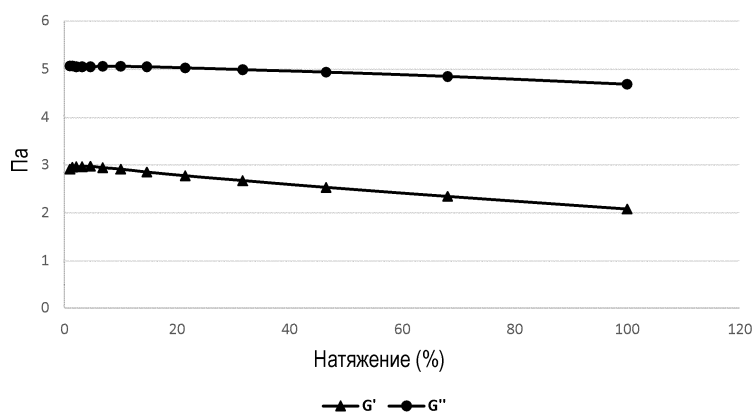
11. Способ по п.10, в котором гастроэзофагеальный рефлюкс имеет эрозивный или не эрозивный тип, и вызывает патологии, выбранные из эзофагита, повреждений эпителия двенадцатиперстной кишки, эрозий, язв и гастритов.

12. Способ по п.10, где композицию вводят два раза в сутки, предпочтительно три раза в сутки.

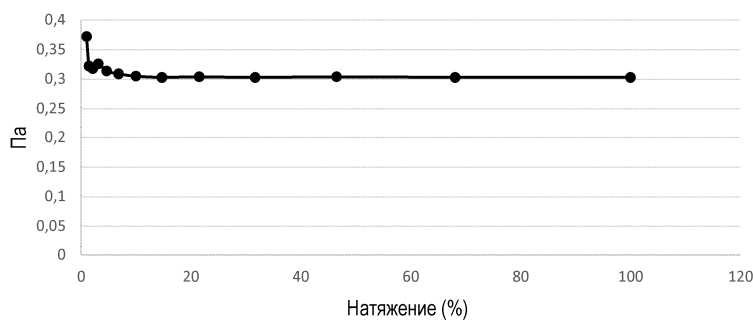
13. Способ по п.11, где гастроэзофагеальным рефлюксом является не эрозивная гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь.



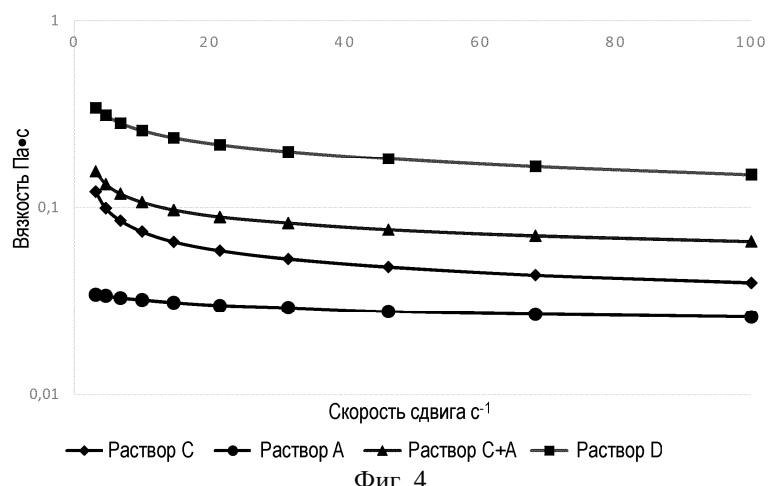
Фиг. 1



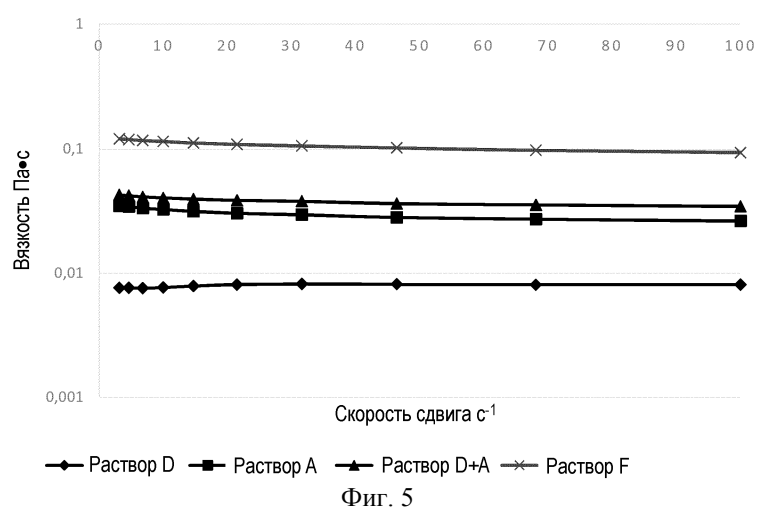
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

